**Iranian Journal of Animal Science Research**
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

**Research Article**
**Vol. 16, No.2, 2024, p. 203-220**

# Determining the Bioavailability Percentage of Bone Ash Phosphorus Compared to Monocalcium Phosphate and Its Effect on Performance, Bone Quality and Phosphorus Digestibility in Broilers

**Mohammad Sedghi [1*], Zahra Sarrami [2], Razieh Ghasemi [2] and Mehdi Zanghae [3]**

1 and 2- Associate Professor and M.Sc., Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran, respectively.
3- Phd Student., Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Mashhad, Mashhad, Iran.
*Corresponding Author's Email: mo.sedghi@iut.ac.ir

| Received: 03-01-2023<br>Revised: 28-02-2023<br>Accepted: 01-03-2023<br>Available Online: 01-03-2023 | **How to cite this article:**<br>Sedghi, M., Sarrami, Z., Ghasemi, R., & Zanghae, M. (2023). Determining the bioavailability percentage of bone ash phosphorus compared to monocalcium phosphate and its effect on performance, bone quality and phosphorus digestibility in broilers. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *16*(2), 203-220. (In Persian with English Abstract). http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.83152.1156 |
|---|---|

**Introduction:** Phosphorus (P) and calcium (Ca) are macro-minerals for normal growth and development. Phosphorus plays a vital role in muscle function, enzyme activity, lipid metabolism, bone mineralization, maintaining osmotic and acid-base balance, energy metabolism, amino acid metabolism, and protein synthesis. In addition, in layers, P is required to replace tissue metabolites such as nucleotides and phospholipids, maintain skeletal integrity, and produce the egg. Also, Ca is essential for eggshell formation, coagulation, muscle, and nerve function. Bone is a rich source of P and Ca, which can be converted into bone ash (BA) as an organic source to supply P and Ca. Today, BA has been introduced as a suitable alternative for mineral sources of P and Ca in the poultry industry. Barshan *et al* reported in 2019 that the use of BA compared to dicalcium phosphate caused a significant increase in weight in broilers. The purpose of this study was to use bone ash as a dietary P source and to investigate the P bioavailability in it compared to monocalcium phosphate (MCP) as a standard source.

**Materials and Methods:** 350 one-day-old broilers were used in a completely randomized design with 7 treatments and 5 repetitions. The dietary treatments were: 1) basic diet containing 0.11% of available P; 2, 4, 3) supplementing the basic diet with 0.05, 0.1, and 0.15% P from MCP source; 5, 6, 7) supplementing the basic diet with 0.05, 0.1, and 0.15% P from BA source. All experimental diets contained 0.78% Ca. At the end of the experiment, the P bioavailability in the BA was obtained based on the P consumed in relation to the daily weight gain and tibia bone ash by the slope-ratio method. Also, the investigated parameters such as digestibility and antibody titer against sheep red blood cells (SRBC) were analyzed in a factorial design.

**Results and Discussion:** The results showed that based on the weight gain in the grower (10 to 25 days) and finisher (26 to 35 days) periods, the bioavailability of P in BA was 82.37% and 93.24%, respectively. Therefore, it can be concluded that with the increase in the consumption time of BA, its P bioavailability has also increased and it has been able to compensate for the lack of growth well and almost similar to monocalcium phosphate. Also, based on the percentage of ash and P of tibia bone, the P bioavailability was 92.86% and 96.39%, respectively.

The factorial analysis of digestibility results also showed that by increasing the level of P in diet and using MCP, the percentage of dry matter digestibility increases significantly ($P<0.05$). Also, the percentage of P digestibility increased numerically with the increase in diet P and the use of BA. Also, factorial analysis of the data related to the production of antibody titer against sheep red blood cells, we observed that the only significant difference in the main effects was for the total antibody titer and IgG in the secondary response; So


http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.83152.1156

that the antibody titer produced in the secondary response was significantly higher in chickens fed with monocalcium phosphate than in chickens fed with bone ash ($P<0.05$). The results of the bone quality test showed that the shear and tensile stress for the tibia was significantly higher in chickens fed with 0.26% P ($P<0.05$); but there was no significant difference between chickens fed with MCP and BA. An increase in tensile and shear stress means that more force is required to break these bones, which indicates the greater strength of these bones. Measuring the percentage of ash and phosphorus (P) in tibia bones showed that as the dietary phosphorus level increased, the percentage of ash and phosphorus in the tibia also increased significantly ($P<0.05$). Additionally, using monocalcium phosphate (MCP) in the diet resulted in a significant increase in tibia phosphorus ($P<0.05$); however, there was no significant difference in the percentage of tibia bone ash. Given the limited availability and high cost of phosphorus and calcium mineral resources, it is essential to find suitable alternatives. Bone ash (BA) is a rich source of phosphorus and calcium, which can be used as an organic source to supply these minerals in industrial poultry diets. Consistent with our results, Van Haren et al. reported that BA can compensate for growth deficits in broiler chickens, similar to diets supplemented with dicalcium phosphate (DCP) and MCP, compared to diets without a phosphorus source.

**Conclusion:** In general, according to the results, it can be concluded that the bioavailability of P in BA is 92 to 96% compared to MCP. This result shows the good ability of BA to replace mineral sources of P. Also, since the absorbability of MCP is higher than dicalcium phosphate (DCP), it can be concluded that BA can have the same efficiency as DCP and be introduced as a substitute in the poultry industry.

**Keywords:** Bioavailability, Bone ash, Bone quality, Digestibility, Phosphorus

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳، ص. ۲۲۰-۲۰۳

# تعیین درصد زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم فسفات و تأثیر آن بر عملکرد، کیفیت استخوان و قابلیت هضم فسفر در جوجه‌های گوشتی سویه آرین

محمد صدقی[1*]، زهرا صرّامی[2]، راضیه قاسمی[2] و مهدی زنقایی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۷
تاریخ بازنگری:۱۴۰۲/۰۷/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۵

## چکیده

استخوان منبع سرشار از فسفر و کلسیم است که میتوان طی فرآیندهایی آن را به خاکستر استخوان تبدیل کرد. هدف از این مطالعه استفاده از خاکستر استخوان به‌عنوان منبع فسفر و بررسی درصد زیست‌فراهمی فسفر موجود در آن بود. برای این منظور، از ۳۵۰ قطعه جوجه‌گوشتی در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار استفاده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱) جیره پایه حاوی ۰/۱۱ درصد فسفر قابل دسترس؛ ۲، ۳ و ۴) مکمل کردن جیره پایه با ۰/۰۵ و ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات؛ ۵، ۶ و ۷) مکمل کردن جیره پایه با ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان. درصد زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان براساس فسفر مصرفی نسبت به افزایش وزن روزانه و خاکستر استخوان با روش نسبت شیب خط به‌دست آمد. نتایج نشان داد که براساس افزایش وزن پرنده، فسفر خاکستر استخوان در دوره رشد و در دوره پایانی به‌ترتیب ۸۲/۳۷ درصد و ۹۳/۲۴ درصد اثربخشی زیستی داشته است. براساس نتایج حاصل از عملکرد و افزایش درصد زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان در دوره پایانی، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش زمان مصرف خاکستر استخوان، زیست‌فراهمی فسفر آن نیز افزایش یافته و توانسته است کمبود رشد اولیه را جبران کند. همچنین، براساس درصد خاکستر و فسفر استخوان درشت‌نی، قابلیت زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم‌فسفات به‌ترتیب ۹۲/۸۶ و ۹۶/۳۹ درصد بود. آنالیز فاکتوریل نتایج قابلیت هضم نشان داد که با افزایش سطح فسفر خوراک و استفاده از مونوکلسیم‌فسفات، درصد قابلیت هضم ماده خشک خوراک به‌طور معناداری افزایش می‌یابد. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که قابلیت زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم فسفات ۹۲ تا ۹۶ درصد است. این نتیجه بیانگر قابلیت خوب خاکستر استخوان برای استفاده به‌عنوان منبع معدنی فسفر و کلسیم است.

**واژه‌های کلیدی:** خاکستر استخوان، فسفر، قابلیت زیست‌فراهمی، قابلیت هضم، کیفیت استخوان

## مقدمه

فسفر دومین عنصر معدنی مورد نیاز در بدن پرندگان و یکی از اجزای ضروری در جیره‌های طیور تجاری به حساب می‌آید. این عنصر در فرآیندهای زیادی مانند حرکت ماهیچه‌ها، عملکرد آنزیم‌ها، متابولیسم چربی‌ها، استحکام استخوان، حفظ فشار اسمزی بدن و متابولیسم انرژی شرکت می‌کند (Suttle, 2010). علاوه‌براین، فسفر در پرندگان برای جایگزینی متابولیت‌های بافتی مانند نوکلئوتیدها و فسفولیپیدها، حفظ یکپارچگی اسکلتی و تولید تخم مورد نیاز است (Li *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2017). تقریباً ۷۰ درصد فسفر موجود در غلات به‌شکل فیتات است (Haug *et al.*, 1983). اسید فایتیک موجود در غلات جیره‌ها باعث ایجاد محدودیت در زیست‌فراهمی عناصر معدنی می‌شود؛ زیرا فیتات عناصری مانند فسفر و کلسیم را باند می‌کند و آن‌ها را از دسترس پرنده خارج می‌کند (Cowieson *et al.*, 2004) و این امر باعث افت تولید و کاهش عملکرد می‌شود (Cowieson *et al.*, 2004). امروزه برای جبران این کمبود دو راهکار دنبال می‌شود: ۱) استفاده از آنزیم فیتاز در جیره؛ ۲) افزودن منابع معدنی فسفر و کلسیم مثل دی‌کلسیم فسفات و کربنات. مطالعات مختلف نشان می‌دهد که منابع معدنی فسفات که در دنیا وجود دارند، رو به اتمام است و از طرف دیگر، حدود ۵۰ درصد از

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و کارشناس ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.
۳- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: mo.sedghi@iut.ac.ir)
http://doi.org/10.22067/ijasr.2023.83152.1156

فسفات مصرفی در بخش خوراک دام و طیور، مربوط به بخش طیور است. به همین دلیل، ما نیاز به جایگزین کردن منابع فسفر داریم. استخوان یکی از منابع سرشار از فسفر و کلسیم است که می‌توان طی فرآیندهایی مانند چربی و ژلاتین‌زدایی و خاکستر کردن، آن‌ها را به خاکستر استخوان به‌عنوان یک منبع آلی برای تأمین فسفر و کلسیم جیره، تبدیل کرد. امروزه، خاکستر استخوان به‌عنوان جایگزینی مناسبی برای منابع معدنی فسفر و کلسیم در صنعت طیور معرفی شده است.

بارشان و همکاران (Barshan *et al.*, 2019) در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که استفاده از خاکستر استخوان نسبت به دی‌کلسیم فسفات در جوجه‌های گوشتی باعث افزایش معنادار وزن در دوره آغازین شد و همچنین در کل دوره نیز وزن در جوجه‌های تغذیه شده با خاکستر استخوان به‌صورت عددی افزایش یافت. این امر نشان می‌دهد که خاکستر استخوان می‌تواند جایگزین مناسبی برای منابع معدنی فسفر و کلسیم باشد. نکته حائز اهمیت این است که در محتوای فسفر و قابلیت هضم خاکستر استخوان، تنوع قابل توجهی وجود دارد که به شرایط شیمیایی و ترموفیزیکی اعمال شده در طول فرآیند بستگی دارد (Barshan *et al.*, 2019). ون‌هارن و همکاران (Van Harn *et al.*, 2017) در سال ۲۰۱۷ اشاره کردند که قابلیت هضم فسفر خاکستر استخوان کمتر از فسفر فسفات معدنی است ؛ امّا با این وجود، احتمال افزایش قابلیت هضم فسفر را در طی فرآیند ژلاتین‌زدایی پیشنهاد کردند؛ به همین دلیل می‌توان گفت که درصد زیست‌فراهمی فسفر موجود در خاکستر استخوان هنوز در هاله‌ایی از ابهام است. بنابراین، هدف از این مطالعه استفاده از خاکستر استخوان چربی و ژلاتین‌زدایی شده به‌عنوان منبع فسفر جیره و بررسی درصد زیست‌فراهمی فسفر موجود در آن در برابر مونوکلسیم‌فسفات است.

## مواد و روش‌ها

### ۱. پرندگان و تیمارهای‌آزمایشی

به‌منظور انجام این آزمایش از ۳۵۰ قطعه جوجه‌گوشتی یک روزه نژاد آرین در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و پنج تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار با میانگین وزنی ۳۸/۸ گرم استفاده شد. پرندگان جیره‌های آزمایشی را طی دو دوره رشد (۱۰ تا ۲۵ روز) و پایانی (۲۶ تا ۳۵ روز) مصرف کردند. جیره‌های استفاده شده تأمین‌کننده احتیاجات مواد مغذی پرنده (به غیر از فسفر) بر مبنای توصیه کاتالوگ جوجه گوشتی آرین بود (جداول ۱ و ۲). به منظور فرموله کردن جیره‌ها، ابتدا مواد خوراکی به‌منظور تعیین درصد فسفر کل آنالیز شدند و جیره‌ها فرموله شدند. فسفر مواد خوراکی نیز تعیین و در جدول ۱ گزارش شد. میزان مواد مغذی (آسیدهای آمینه) جیره‌های پایانی (جدول ۲) براساس نیاز جوجه گوشتی آرین در سن ۲۶ روزگی تغییر کرد؛ امّا درصد فسفر و کلسیم ثابت ماند (درصد کلسیم و فسفر در جیره‌های رشد و پایانی مشابه بود). درصد کلسیم در تمامی تیمارهای آزمایشی یکسان و به‌میزان ۰/۷۸ درصد بود. تیمارهای آزمایشی به شرح زیر بودند:

۱. جیره پایه داری کمبود فسفر و فاقد منبع فسفاته (۰/۱۱ درصد فسفر قابل دسترس)
۲. جیره پایه + ۰/۰۵ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم‌فسفات (۰/۱۶ درصد فسفر قابل دسترس)
۳. جیره پایه + ۰/۱ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات (۰/۲۱ درصد فسفر قابل دسترس)
۴. جیره پایه + ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع مونوکلسیم فسفات (۰/۲۶ درصد فسفر قابل دسترس)
۵. جیره پایه + ۰/۰۵ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان (۰/۱۶ درصد فسفر قابل دسترس)
۶. جیره پایه + ۰/۱ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان (۰/۲۱ درصد فسفر قابل دسترس)
۷. جیره پایه + ۰/۱۵ درصد فسفر از منبع خاکستر استخوان (۰/۲۶ درصد فسفر قابل دسترس)

مونوکلسیم فسفات استفاده شده در این طرح از شرکت ایران فسفات تهیه شد و قابلیت زیست‌فراهمی آن براساس ادعای شرکت تولیدکننده در نظر گرفته شد (۲۲ درصد فسفر و ۱۷ درصد کلسیم). همچنین خاکستر استخوان استفاده شده در این مطالعه از شرکت الماس نوین شرق تهیه شد. در این شرکت، خاکستر استخوان از ضایعات کشتارگاهی و مراکز بسته‌بندی گوشت تهیه می‌شود. برای این منظور، ضایعات استخوانی جمع‌آوری شده و به کارخانه منتقل می‌شود؛ سپس استخوان‌ها طی دو مرحله پخت، چربی زدایی و ژلاتین‌زدایی می‌شوند و برای از دست دادن رطوبت به اتاقک‌های خشک‌کن منتقل می‌شوند. پس از خشک شدن به داخل کوره منتقل شده تا در دمای بالا عملیات سوختن صورت گیرد. پس از سوختن و خنک شدن استخوان‌ها خاکستر شده، آسیاب و بسته بندی می‌شوند. براساس آنالیز آزمایشگاهی خاکستر استخوان حاوی ۳۶ درصد کلسیم و ۱۷ درصد فسفر است.

مدت زمان آزمایش از ۱۰ تا ۳۵ روزگی بود و جیره‌های آزمایشی طی دو دوره ۱۰ تا ۲۵ و ۲۶ تا ۳۵ روزگی به‌صورت دسترسی آزاد در اختیار پرندگان قرار گرفت. لازم به ذکر است که پرندگان از سن یک تا نه روزگی با جیره استاندارد تغذیه شدند. پرندگان در سن ۱۰، ۲۵ و ۳۵ روز به‌صورت انفرادی وزن شدند و میانگین افزایش وزن روزانه، میانگین خوراک مصرفی و ضریب تبدیل خوراک برای هر دوره پرورشی محاسبه شد. همچنین، تعداد تلفات در هر دوره ثبت شد و ضریب تبدیل خوراک براساس تلفات تصحیح شد؛ امّا از آنجایی که تعداد تلفات کم بود، آنالیز آماری برای آن صورت نگرفت.

**جدول ۱**- مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی از ۱۰ تا ۲۵ روزگی (گرم/کیلوگرم جیره)

**Table 1**- Food ingredients and nutrients of experimental diets from 10 to 25 days (g/kg)

| ترکیب جیره<br>Diet composition | تیمار ۱<br>T1 | تیمار ۲<br>T2 | تیمار ۳<br>T3 | تیمار ۴<br>T4 | تیمار ۵<br>T5 | تیمار ۶<br>T6 | تیمار ۷<br>T7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ذرت<br>Corn (CP= 7.6%) | 625.7 | 623.0 | 620.9 | 617.8 | 625.9 | 625.6 | 624.8 |
| سویا<br>Soybean meal (CP= 43.0%) | 326.5 | 327.0 | 327.0 | 328.0 | 326.0 | 326.0 | 326.5 |
| روغن سویا<br>Soy oil | 14.2 | 15 | 15.8 | 16.8 | 14.3 | 14.4 | 14.5 |
| خاکستر استخوان<br>Bone ash (P=17%, Ca=36%) | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.1 | 6 | 9 |
| مونوکلسیم فسفات<br>MCP (P=22%, Ca=17%) | 0.0 | 2.4 | 4.7 | 6.9 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| کربنات کلسیم<br>Limestone | 17.4 | 16.4 | 15.4 | 14.3 | 14.5 | 11.8 | 9.0 |
| جوش‌شیرین<br>$NaHCO_3$ | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 |
| نمک طعام<br>Common salt | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 |
| DL-متیونین<br>DL-methionine | 2.8 | 2.8 | 2.8 | 2.8 | 2.8 | 2.8 | 2.8 |
| لیزین هیدروکلراید<br>L-lysine-HCl | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| L-ترئونین<br>L-threonine | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| کولین کلراید<br>Choline chloride | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| مکمل ویتامینی [۱]<br>Vitamins premix [1] | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| مکمل معدنی [۲]<br>Mineral premix [2] | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| آنالیز مواد مغذی<br>Nutrient analysis | | | | | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم)<br>ME (kcal/kg) | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 | 2950 |
| پروتئین خام (٪)<br>Crude protein (%) | 20.08 | 20.08 | 20.08 | 20.08 | 20.08 | 20.08 | 20.08 |
| لیزین قابل هضم (٪)<br>Digestible lysine (%) | 1.07 | 1.07 | 1.07 | 1.07 | 1.07 | 1.07 | 1.07 |
| متیونین قابل هضم (٪)<br>Digestible Methionine (%) | 0.47 | 0.47 | 0.47 | 0.47 | 0.47 | 0.47 | 0.47 |
| متیونین+سیستئین قابل هضم (٪)<br>Digestible Met+Cys (%) | 0.81 | 0.81 | 0.81 | 0.81 | 0.81 | 0.81 | 0.81 |
| ترئونین قابل هضم (٪)<br>Digestible threonine (%) | 0.72 | 0.72 | 0.72 | 0.72 | 0.72 | 0.72 | 0.72 |
| کلسیم (٪)<br>Calcium (%) | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 |
| فسفر کل آنالیز شده (٪)<br>Total phosphorus analyzed (%) | 0.25 | 0.30 | 0.35 | 0.40 | 0.31 | 0.36 | 0.41 |
| فسفر قابل دسترس (٪)<br>Available phosphorus (%) | 0.11 | 0.16 | 0.21 | 0.26 | 0.16 | 0.21 | 0.26 |

[۲] مکمل ویتامینی تأمین‌کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: ویتامینA 12000 IU، ویتامین$D_3$ 5000 IU، ویتامینE 80 IU، ویتامینK 3.2 mg، ویتامینB1 3.2 mg، ویتامینB2 8.6 mg، نیاسین 65 mg، ویتامینB5 20 mg، ویتامینB6 4.3 mg، بیوتین 0.22 mg، اسیدفولیک 2.2 mg، ویتامینB12 0.017 mg

[۳] مکمل معدنی تأمین‌کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: مس 16 mg، ید 1.25 mg، آهن 20 mg، منگنز 120 mg، سلنیوم 0.3 mg، روی 110 mg

Supplied per kg of diet: 12000 IU Vit A, 5000 IU Vit D3, 80 IU Vit E, 3.2mg Vit K, 3.2 mg Vit B1, 8.6 mg Vit [1] B2, 65 mg niacin, 20 mg pantothenic acid, 4.3 mg Vit B6, 0.22 mg biotin, 2.2 mg folic acid and 0.017 mg VitB12.

[2] Supplied per kg of diet: 16 mg copper, 1.25 mg iodine, 20 mg iron, 120 mg manganese, 0.3 mg selenium and 110 mg zinc.

**جدول ۲**- مواد خوراکی و مواد مغذی جیره‌های آزمایشی از ۲۶ تا ۳۵ روزگی (گرم/کیلوگرم جیره)

**Table 2**- Food ingredients and nutrients of experimental diets from 26 to 35 days (g/kg)

| ترکیب جیره<br>Diet composition | تیمار ۱<br>T1 | تیمار ۲<br>T2 | تیمار ۳<br>T3 | تیمار ۴<br>T4 | تیمار ۵<br>T5 | تیمار ۶<br>T6 | تیمار ۷<br>T7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ذرت<br>(CP= 7.6%) Corn | 657.0 | 654.3 | 652.0 | 649.8 | 656.6 | 656.3 | 656.0 |
| سویا<br>(CP= 43.0%) Soybean meal | 288.2 | 288.6 | 288.8 | 289.1 | 288.4 | 288.4 | 288.5 |
| روغن سویا<br>Soy oil | 21.3 | 22.2 | 23 | 23.7 | 21.4 | 21.5 | 21.6 |
| خاکستر استخوان<br>(P=17%, Ca=36%) Bone ash | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.4 | 6.3 | 9.3 |
| مونوکلسیم فسفات<br>(P=22%, Ca=17%) MCP | 0.0 | 2.6 | 4.9 | 7.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| کربنات کلسیم<br>Limestone | 17.8 | 16.6 | 15.6 | 14.5 | 14.5 | 11.8 | 9.0 |
| جوش‌شیرین<br>$NaHCO_3$ | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 |
| نمک طعام<br>Common salt | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 | 2.2 |
| DL-متیونین<br>DL-methionine | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| لیزین هیدروکلراید<br>L-lysine-HCl | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 | 1.9 |
| L-ترئونین<br>L-threonine | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 0.9 | 0.9 |
| کولین کلراید<br>Choline chloride | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| مکمل ویتامینی [۱]<br>Vitamins premix [1] | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| مکمل معدنی [۲]<br>Mineral premix [2] | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 | 2.5 |
| آنالیز مواد مغذی<br>Nutrient analysis | | | | | | | |
| انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم<br>ME (Kcal/kg) | 3025 | 3025 | 3025 | 3025 | 3025 | 3025 | 3025 |
| پروتئین خام (٪)<br>Crude protein (%) | 18.56 | 18.55 | 18.54 | 18.56 | 18.56 | 18.56 | 18.56 |
| لیزین قابل هضم (٪)<br>Digestible lysine (%) | 0.98 | 0.98 | 0.98 | 0.98 | 0.98 | 0.98 | 0.98 |
| متیونین قابل هضم (٪)<br>Digestible methionine (%) | 0.43 | 0.43 | 0.43 | 0.43 | 0.43 | 0.43 | 0.43 |
| متیونین+سیستئین قابل هضم (٪)<br>Digestible met+cys (%) | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.75 | 0.75 |
| ترئونین قابل هضم (٪)<br>Digestible threonine (%) | 0.66 | 0.66 | 0.66 | 0.66 | 0.66 | 0.66 | 0.66 |
| کلسیم (٪)<br>Calcium (%) | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 | 0.78 |
| فسفر کل آنالیز شده (٪)<br>Total phosphorus analyzed (%) | 0.25 | 0.30 | 0.35 | 0.40 | 0.31 | 0.36 | 0.41 |
| فسفر قابل دسترس (٪)<br>Available phosphorus (%) | 0.11 | 0.16 | 0.21 | 0.26 | 0.16 | 0.21 | 0.26 |

[۲] مکمل ویتامینی تأمین‌کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: ویتامین A 12000 IU، ویتامین $D_3$ 5000 IU، ویتامین E 80 IU، ویتامین K 3.2 mg، ویتامین B1 3.2 mg، ویتامین B2 8.6 mg، نیاسین 65 mg، ویتامین B5 20 mg، ویتامین B6 4.3 mg، بیوتین 0.22 mg، اسیدفولیک 2.2 mg، ویتامین B12 0.017 mg

[۳] مکمل معدنی تأمین‌کننده مقادیر زیر در هر کیلوگرم جیره بود: مس 16 mg، ید 1.25 mg، آهن 20 mg، منگنز 120 mg، سلنیوم 0.3 mg، روی 110 mg

[1] B2, 65 mg niacin, 20 mg B1, 8.6 mg Vit K, 3.2 mg Vit E, 3.2mg Vit D3, 80 IU Vit A, 5000 IU Vit Supplied per kg of diet: 12000 IU Vit B6, 0.22 mg biotin, 2.2 mg folic acid and 0.017 mg VitB12. pantothenic acid, 4.3 mg Vit

[2] Supplied per kg of diet: 16 mg copper, 1.25 mg iodine, 20 mg iron, 120 mg manganese, 0.3 mg selenium and 110 mg zinc.

**۲. تیتر آنتی‌بادی علیه گلبول قرمز گوسفندی**

به‌منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی، در سن ۲۱ و ۲۸ روزگی سوسپانسیون پنج درصد گلبول قرمز گوسفندی در سرم فیزیولوژی تهیه شد و به یک پرنده از هر تکرار تزریق شد. سپس ۷ و ۱۴ روز پس از تزریق اول از همان پرنده خونگیری شد و سرم آن‌ها جدا شد. تیتر آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی به‌روش سنجش هماگلوتیناسیون براساس توضیحات اخلاقی و همکاران (Akhlaghi *et al.*, 2013) در سال ۲۰۱۳ اندازه‌گیری شد.

**۳. قابلیت هضم**

به‌منظور برآورد قابلیت هضم فسفر از سن ۱۹ تا ۲۵ روزگی، اکسید کروم به‌عنوان نشانگر به خوراک اضافه شد و سپس در سن ۲۵ روزگی یک جوجه از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب و کشتار شد. سپس محتویات روده از قسمت ایلئوم جهت بررسی قابلیت هضم فسفر نمونه‌گیری شد. جهت برآورد درصد قابلیت هضم ماده خشک و فسفر از معادله‌های زیر استفاده شد (Liu *et al.*, 2013).

معادله (۱)

$$\text{درصد قابلیت هضم ماده‌ی مغذی} = 100 - \left[\left(\frac{\text{درصد اکسید کروم در خوراک}}{\text{درصد اکسید کروم در محتویات روده}}\right) \times \left(\frac{\text{درصد ماده‌ی مغذی در خوراک}}{\text{درصد ماده‌ی مغذی در محتویات روده}}\right) \times 100\right]$$

معادله (۲)

$$\text{درصد قابلیت هضم ماده خشک} = 100 - \left[\left(\frac{\text{درصد اکسید کروم در خوراک}}{\text{درصد اکسید کروم در محتویات روده}}\right) \times 100\right]$$

برای اندازه‌گیری میزان اکسید کروم در محتویات روده و خوراک از روش فنتون و فنتون (Fenton and Fenton, 1979) استفاده شد. همچنین، به‌منظور اندازه‌گیری درصد فسفر محتویات روده و خوراک از روش توضیح داده شده در AOAC 2016 استفاده شد.

**۴. کیفیت استخوان**

در پایان دوره آزمایشی، یک پرنده از هر تکرار به‌طور تصادفی انتخاب و کشتار شد و استخوان درشتنی از پای چپ جهت اندازه گیری خاکستر و فسفر و تعیین پارامترهای کیفیت استخوان جدا شد. برای این منظور، ابتدا استخوان‌ها به‌طور کامل تمیز شدند و سپس جهت جداسازی کلاهک غضروفی به‌مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند (Kocabagli, 2001). طول و عرض استخوان توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد و سپس جهت به‌دست آوردن وزن خشک، استخوان‌ها در آون با دمای ۱۶۰درجه قرار گرفتند (Imari *et al.*, 2020). به‌منظور بررسی استحکام استخوان و اندازه‌گیری تنش برشی و خمشی از دستگاه اینسترون (Santam, STM 20, Iran) براساس توضیحات کوکاباگلی (Kocabagli, 2001) در سال ۲۰۰۱ استفاده شد. پس از شکستن استخوان ضخامت دیواره داخلی با استفاده از کولیس اندازه‌گیری شد و جهت برآورد درصد فسفر و خاکستر، استخوان‌ها به‌مدت هشت ساعت در کوره با دمای ۶۰۰ درجه قرار گرفتند (Efranji *et al.*, 2022). در نهایت، شاخص‌های تیبیوتارسال و ربوستیسیتی براساس معادله‌های زیر محاسبه شدند (; Barnett *et al.*, 1960Riesenfeld, 1972).

معادله (۳ و ۴)

$$\text{شاخص روبوستیسیتی} = \frac{\text{طول استخوان}}{\sqrt[3]{\text{وزن استخوان}}}$$

$$\text{شاخص تیبیوتارسال} = \frac{\text{قطر کانال مدولاری} - \text{قطر دیافیز}}{\text{قطر دیافیز}} \times 100$$

**۵. تجزیه و تحلیل آماری**

داده‌های مربوط به عملکرد، کیفیت استخوان و SRBC به‌صورت یک طرح فاکتوریل ۲×۳ همراه با یک فاکتور اضافه با دو نوع منبع فسفات و سه سطح از هر منبع (هفت تیمار) توسط نرم‌افزار SAS 9.4 آنالیز شدند و مقایسه میانگین توکی در سطح معناداری $P<0.05$ صورت گرفت. همچنین به‌منظور محاسبهٔ درصد زیست‌فراهمی نسبی فسفر، داده‌های حاصل از بررسی افزایش وزن روزانه، قابلیت هضم و پارامترهای کیفیت استخوان نسبت به فسفر مصرف شده توسط پرنده در یک مدل رگرسیون خطی برازش شدند. سپس درصد زیست‌فراهمی نسبی فسفر موجود در خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم‌فسفات، به‌عنوان یک منبع استاندارد، با روش نسبت شیب خط محاسبه شد (Matin *et al.*, 2021). در این روش، ارزش زیست‌فراهمی فسفر براساس تقسیم ضریب رگرسیون معادله سطوح مختلف خاکستر استخوان نسبت به ضریب رگرسیون معادله سطوح مختلف مونوکلسیم‌فسفات محاسبه شد (Cuevas *et al.*, 2019).

معادله (۵): رگرسیون منبع استاندارد (مونوکلسیم‌فسفات)    $Y=a+bx$

معادله (۶): رگرسیون خاکستر استخوان:    $Y=a+bx$

معادله (۷): درصد زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان

$$\left(\frac{\text{ضریب رگرسیون معادله‌ی خاکستر استخوان}}{\text{ضریب رگرسیون معادله‌ی مونو کلسیم فسفات}}\right) \times 100$$

## نتایج و بحث

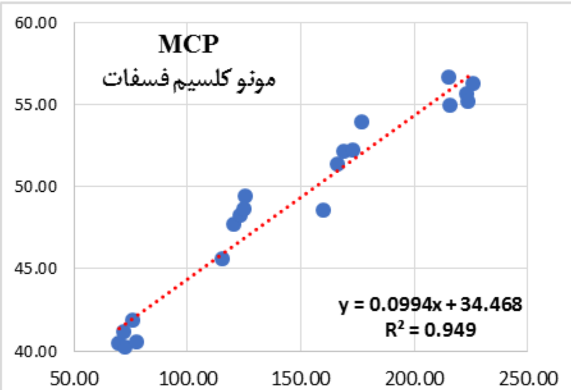
### ۱. عملکرد پرنده

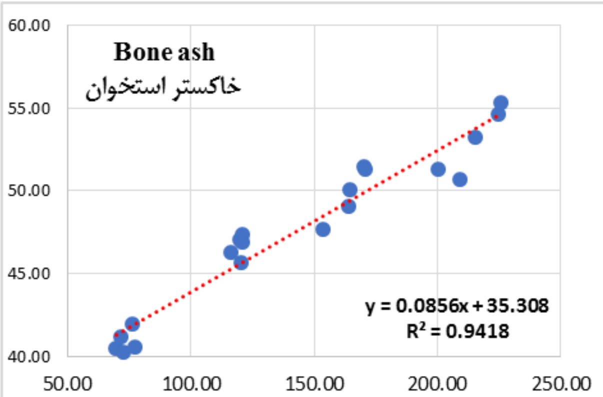
نتایج حاصل از عملکرد و برآورد ارزش زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان براساس افزایش وزن روزانه نسبت به فسفر مصرفی در جدول ۳ و شکل ۱ گزارش داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌کنید، فسفر خاکستر استخوان در دوره رشد (۱۰ تا ۲۵ روز) و در دوره پایانی (۲۶ تا ۳۵ روز) به‌ترتیب ۸۲/۳۷ درصد و ۹۳/۲۴ درصد زیست‌فراهمی داشته است. نتایج حاصل از عملکرد به‌صورت یک طرح فاکتوریل با یک فاکتور اضافه نیز آنالیز شد که در جدول ۴ گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌کنید، با توجه به اثرات اصلی، در هر دو دوره رشد و پایانی بیشترین افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک و کمترین ضریب تبدیل مربوط به تیمارهایی بود که بالاترین سطح فسفر (۰/۲۶ درصد) را داشتند (P<0.05). همچنین در هر دو دوره آزمایشی، جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم‌فسفات افزایش وزن بیشتر و ضریب تبدیل کمتری نسبت به جوجه‌ها تغذیه شده با خاکستر استخوان داشتند (P<0.05). هیچ تفاوت معناداری در اثرات متقابل دیده نشد.

**جدول ۳**- تخمین زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان براساس میانگین افزایش وزن روزانه نسبت به فسفر مصرفی

**Table 3**- Estimation of bone ash phosphorus (P) bioavailability based on average daily weight gain compared to consumed phosphorus

| | منبع فسفر<br>P source | معادله‌ی رگرسیون<br>Regression equation | ضریب تبین<br>R-square | ارزش زیست‌فراهمی نسبی (٪)<br>Bioavailability (%) |
|---|---|---|---|---|
| ۱۰ تا ۲۵ روز<br>10 to 25 days | مونوکلسیم‌فسفات<br>MCP | Y=0.0732 X+ 33.14 | 0.96 | 100 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | Y=0.0603X+ 33.94 | 0.92 | 82.37 |
| ۲۶ تا ۳۵ روز<br>26 to 35 days | مونوکلسیم‌فسفات<br>MCP | Y=0.1199 X+ 37.04 | 0.90 | 100 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | Y=0.1118 X+ 37.19 | 0.91 | 93.24 |
| ۱۰ تا ۳۵ روز<br>10 to 35 days | مونوکلسیم‌فسفات<br>MCP | Y=0.0994 X+ 34.46 | 0.94 | 100 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | Y=0.0856 X+ 35.30 | 0.94 | 86.11 |




**شکل ۱**- نمودار رگرسیون افزایش وزن روزانه نسبت به فسفر مصرفی در کل دوره آزمایشی (۱۰ تا ۳۵ روز)

**Figure 1**- Regression diagram of daily weight gain in relation to phosphorus consumed during the total experimental period (10 to 35 days)

محور عمودی نشان‌دهنده میانگین افزایش وزن روزانه (گرم) و محور افقی نشان‌دهنده میزان فسفر مصرفی در روز (میلی گرم) است.

The vertical axis shows the average daily weight gain (g) and the horizontal axis shows the amount of phosphorus consumed per day (mg).

مطالعات زیادی نشان می‌دهند که افزایش فسفر قابل دسترس جیره از طریق تغییر منبع فسفات جیره و یا افزودن فیتاز باعث بهبود عملکرد و افزایش بهره‌وری خوراک می‌شود (Dilger *et al*., 2004; Pieniazek *et al*., 2017Cowieson *et al*., 2006;). در این مطالعه نیز افزایش فسفر قابل دسترس خوراک باعث افزایش معنادار وزن و بهبود عملکرد شد. در توافق با نتایج ما، آکتر و همکاران (Akter *et al*., 2016) گزارش کردند که افزایش فسفر قابل دسترس جیره به‌طور معناداری باعث افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل خوراک می‌شود.

**جدول ٤**– تأثیر منبع و سطح فسفر بر عملکرد جوجه‌های گوشتی سویه آرین (گرم)

**Table 4-** The effect of the source and level of phosphorus (P) on the performance of Arian strain broilers (g)

| منبع فسفر<br>P source | سطح فسفر<br>P level | ۱۰ تا ۲۵ روز<br>10 to 25 days<br>ADWG [1] | ADFI [2] | FCR [3] | ۲۶ تا ۳۵ روز<br>26 to 35 days<br>ADWG [1] | ADFI [2] | FCR [3] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فاقد منبع فسفر<br>No phosphorus source | 0.11 % | 38.15$^{e}$ | 61.72$^{c}$ | 1.61$^{a}$ | 44.62$^{e}$ | 74.33$^{e}$ | 1.66 |
| مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 0.16 % | 40.55$^{d}$ | 64.39$^{bc}$ | 1.59$^{abc}$ | 58.20$^{d}$ | 93.06$^{bc}$ | 1.59 |
| | 0.21 % | 43.36$^{bc}$ | 65.25$^{abc}$ | 1.50$^{d}$ | 63.19$^{bdc}$ | 102.03$^{ab}$ | 1.50 |
| | 0.26 % | 46.12$^{a}$ | 68.56$^{a}$ | 1.48$^{d}$ | 69.18$^{a}$ | 108.03$^{a}$ | 1.48 |
| خاکستر استخوان<br>Bone ash | 0.16 % | 39.92$^{de}$ | 64.43$^{bc}$ | 1.61$^{ab}$ | 55.99$^{d}$ | 89.75$^{c}$ | 1.68 |
| | 0.21 % | 42.61$^{c}$ | 65.82$^{ab}$ | 1.54$^{bcd}$ | 60.04$^{bcd}$ | 96.22$^{bc}$ | 1.54 |
| | 0.26 % | 44.42$^{ab}$ | 68.13$^{ab}$ | 1.53$^{cd}$ | 65.93$^{ab}$ | 103.22$^{ab}$ | 1.55 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.203 |
| خطای استاندارد میانگین<br>SEM | | 0.398 | 0.852 | 0.015 | 1.343 | 1.493 | 0.029 |
| اثرات اصلی<br>Main effects | | | | | | | |
| درصد فسفر<br>P level | 0.16 % | 40.23$^{c}$ | 64.41$^{b}$ | 1.60$^{a}$ | 57.09$^{c}$ | 91.40$^{c}$ | 1.60 |
| | 0.21 % | 42.99$^{b}$ | 65.53$^{b}$ | 1.52$^{b}$ | 61.62$^{b}$ | 99.13$^{b}$ | 1.61 |
| | 0.26 % | 44.94$^{a}$ | 68.35$^{a}$ | 1.52$^{b}$ | 67.55$^{a}$ | 105.65$^{a}$ | 1.56 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | <0.0001 | 0.0002 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.099 |
| منبع فسفر<br>P source | مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 43.34$^{a}$ | 66.07 | 1.52$^{b}$ | 63.52$^{a}$ | 101.05$^{a}$ | 1.59 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | 42.10$^{b}$ | 66.13 | 1.57$^{a}$ | 60.65$^{b}$ | 96.39$^{b}$ | 1.59 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.0026 | 0.927 | 0.0009 | 0.0215 | 0.034 | 0.971 |
| اثرات متقابل<br>[4] Intractional | | | | | | | |
| مقدار احتمال<br>P-value<br>منبع فسفر × سطح فسفر<br>P source × P level | | 0.129 | 0.828 | 0.276 | 0.923 | 0.885 | 0.909 |

[۱] میانگین افزایش وزن روزانه؛ [۲] میانگین خوراک مصرفی روزانه؛ [۳] ضریب تبدیل خوراک.

[۴] به‌دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

[ab] اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی $P<0.05$).

[1] Average daily weight gain; [2] average daily feed intake; [3] feed conversion ratio

[4] Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

[ab] Value in each column with different letters has statistically significant differences (Tukey's test $P<0.05$).

همچنین براساس نتایج حاصل از عملکرد در این مطالعه متوجه این نکته می‌شویم که با افزایش سطح فسفر جیره، پرندگانی که از منبع خاکستر استخوان استفاده کرده‌اند در مقایسه با پرندگانی که منبع مونوکلسیم‌فسفات را استفاده کرده‌اند، تفاوت وزن معناداری ندارند. به همین دلیل، می‌توانیم نتیجه بگیریم که خاکستر استخوان توانسته است کمبود رشد اولیه را به‌خوبی و تقریباً مشابه با مونوکلسیم‌فسفات جبران کند. در توافق با نتایج ما، ون‌هارن و همکاران (Van Harn *et al.*, 2017) گزارش کردند که خاکستر استخوان می‌تواند مشابه با دی و مونوکلسیم‌فسفات کمبود رشد را نسبت به جیره‌های بدون منبع فسفات در جوجه‌های گوشتی جبران کند. همچنین بارشان و همکاران (Barshan *et al.*, 2019) در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که استفاده از خاکستر استخوان ژلاتین‌زدایی شده در مقایسه با دی‌کلسیم‌فسفات باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی از ۱ تا ۲۸ روزگی می‌شود. بنابراین، به‌طور کلی، می‌توانیم نتیجه بگیریم که خاکستر استخوان می‌تواند جایگزین خوبی برای منابع معدنی فسفات باشد.

بررسی درصد زیست‌فراهمی فسفر براساس فسفر مصرفی نسبت به عملکرد نشان داد که زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان در مرحله پایانی نسبت به مرحله رشد افزایش یافته است. بر همین اساس، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش زمان مصرف خاکستر استخوان توسط پرنده، زیست‌فراهمی فسفر آن نیز افزایش می‌یابد. همچنین، در این مطالعه به‌دلیل بررسی اثرات رگرسیون، کمبود فسفر اعمال شد و سطح استاندارد فسفر بررسی نشد؛ امّا در مطالعه دیگری که انجام دادیم، مشاهده کردیم که زمانی که سطح فسفر قابل دسترس جیره در سطح استاندارد توصیه شده در کاتالوگ باشد (۰/۴۸ درصد استارتر، ۰/۴۳ درصد رشد و ۰/۳۹ درصد پایانی)؛ خاکستر استخوان می‌تواند حتی بهتر از دی‌کلسیم‌فسفات عمل کند؛ به‌طوری‌که در کل دوره پرورش افزایش وزن روزانه در پرندگان تغذیه شده با خاکستر استخوان ۴۷/۰۶ گرم و در پرندگان تغذیه شده با دی-کلسیم‌فسفات ۴۵/۷۷ گرم بود (Sedghi *et al.*, 2023). بنابراین، این احتمال وجود دارد که با افزایش زمان مصرف خوارک و تأمین فسفر و کلسیم در سطح استاندارد توصیه شده، خاکستر استخوان بتواند بهتر از منابع معدنی فسفات نیز عمل کند.

**۲. تیترآنتی بادی علیه SRBC**

تأثیر سطح و منبع فسفر بر تیتر آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی در جدول ۵ گزارش شده است. همان‌طور که مشاهده می‌کنید، تنها تفاوت معنادار در اثرات اصلی برای تیترآنتی‌بادی کل و IgG در پاسخ ثانویه مشاهده شده است؛ به نحوی که تیتر آنتی‌بادی تولید شده در پاسخ ثانویه، در جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم-فسفات به‌طور معناداری بیشتر از جوجه‌های تغذیه شده با خاکستر استخوان بوده است ($P<0.05$). برای سایر میانگین‌ها تفاوت معناداری مشاهده نشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزایش سطح فسفر جیره باعث افزایش تیتر آنتی‌بادی می‌شود که می‌تواند نشان‌دهنده تقویت سیستم ایمنی باشد. در توافق با نتایج ما، ناری و همکاران (Nari *et al.*, 2020) در مطالعه خود گزارش کردند که کاهش سطح فسفر جیره باعث کاهش وزن اندام‌های لنفاوی می‌شود که نشان‌دهنده کاهش عملکرد سیستم ایمنی پرنده است. همچنین در این راستا، امامی و همکاران گزارش کردند که کاهش سطح فسفر جیره باعث کاهش تولید تیترآنتی‌بادی‌های کل و IgG و IgM علیه گلبول قرمز گوسفندی می‌شود (Emami *et al.*, 2013). این امر احتمالاً به‌دلیل تضعیف بدن پرنده در اثر کمبود مواد مغذی و متعاقب آن تضعیف سیستم ایمنی است.

**۳. کیفیت استخوان درشت‌نی**

نتایج حاصل از تست کیفیت استخوان درشت‌نی در جدول ۶ گزارش شده است. باتوجه به اثرات اصلی، بیشترین وزن خشک، طول استخوان درشت‌نی ، ضخامت دیواره و شاخص وزن مربوط به جوجه هایی بود که با بیشترین سطح فسفر (۰/۲۶ درصد) و مونوکلسیم فسفات تغذیه شده بودند ($P<0.05$). برای پارامترهای قطر کانال مدولاری و شخاص تیبیوتارسال هیچ تفاوت معناداری بین تیمارها وجود نداشت؛ امّا براساس اثرات اصلی، شاخص روبوستیستی در جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۱۶ درصد فسفر به‌طور معناداری بیشتر بود. اثرات متقابل برای وزن خشک و شاخص روبوستیستی معنادار بود؛ امّا برای سایر پارامترها تفاوت معناداری نداشت.

نتایج حاصل از تست استحکام و میزان خاکستر و فسفر درشت‌نی در جدول ۷ گزارش شده است. باتوجه به اثرات اصلی، تنش برشی و خمشی برای استخوان درشت‌نی در جوجه‌های تغذیه شده با ۰/۲۶ درصد فسفر به‌طور معناداری بیشتر بود ($P<0.05$)؛ امّا بین جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم‌فسفات و خاکستر استخوان تفاوت معناداری وجود نداشت. افزایش نیروی خمشی و برشی بدین معنا است که برای شکستن این استخوان‌ها نیروی بیشتری لازم است، که نشان‌دهنده استحکام بیشتر این استخوان‌ها است. هیچ تفاوت معناداری برای اثرات متقابل وجود نداشت. اندازه‌گیری درصد خاکستر و فسفر استخوان‌های درشت‌نی نشان داد که با افزایش سطح فسفر در جیره، درصد خاکستر و فسفر درشت‌نی به‌طور معناداری بیشتر می‌شود ($P<0.05$). همچنین استفاده از مونوکلسیم فسفات در جیره باعث

افزایش معنادار فسفر درشت‌نی شده بود (P<0.05)؛ امّا در درصد خاکستر تفاوت معناداری ایجاد نکرده بود. نتایج حاصل از آنالیز رگرسیون درصد خاکستر و فسفر درشت‌نی نیز در جدول ۸ و شکل ۲ و ۳ گزارش شده است. براساس نتایج حاصل از آنالیز رگرسیون، قابلیت زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان براساس درصد خاکستر و فسفر درشت‌نی ، به‌ترتیب ۹۲/۸۶ و ۹۶/۳۹ درصد بود.

**جدول ۵**- تأثیر منبع و سطح فسفر بر تیتر آنتی‌بادی تولید شده علیه گلبول قرمز گوسفندی در جوجه‌های گوشتی (لگاریتم ۲)

**Table 5-** The effect of the source and level of phosphorus (P) on the antibody titer produced against sheep red blood cells in broilers (Log2)

| منبع فسفر<br>P source | سطح فسفر<br>P level | پاسخ اولیه<br>Primary response | | | پاسخ ثانویه<br>Secondary response | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | آنتی‌بادی کل<br>Total antibody | IgG | IgM | آنتی‌بادی کل<br>Total antibody | IgG | **IgM** |
| فاقد منبع فسفر<br>No phosphorus source | 0.11 % | 2.20 | 1.00 | 1.20 | 3.40 [b] | 1.80 [a] | 1.60 |
| مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 0.16 % | 3.20 | 1.20 | 2.00 | 6.00 [a] | 3.40 [ab] | 2.60 |
| | 0.21 % | 3.40 | 1.60 | 1.80 | 6.22 [a] | 3.60 ab | 2.60 |
| | 0.26 % | 3.80 | 1.80 | 2.00 | 6.40 [a] | 4.00 [a] | 2.40 |
| خاکستر استخوان<br>Bone ash | 0.16 % | 2.60 | 1.40 | 1.20 | 4.00 [ab] | 2.00 [b] | 2.00 |
| | 0.21 % | 3.20 | 1.60 | 2.60 | 5.40 [ab] | 2.60 [ab] | 2.80 |
| | 0.26 % | 4.00 | 2.00 | 2.00 | 5.80 [ab] | 3.40 [ab] | 2.40 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.371 | 0.393 | 0.767 | 0.0041 | 0.008 | 0.518 |
| خطای استاندارد میانگین<br>SEM | | 0.595 | 0.329 | 0.489 | 0.568 | 0.444 | 0.437 |
| اثرات اصلی<br>Main effects | | | | | | | |
| درصد فسفر<br>P level | 0.16 % | 2.90 | 1.30 | 1.60 | 5.00 | 2.70 | 2.30 |
| | 0.21 % | 3.30 | 1.60 | 1.70 | 5.80 | 3.10 | 2.40 |
| | 0.26 % | 3.90 | 1.90 | 2.00 | 6.10 | 3.70 | 2.70 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.261 | 0.261 | 0.862 | 0.165 | 0.125 | 0.623 |
| منبع فسفر<br>P source | مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 3.49 | 1.53 | 1.93 | 6.20 [a] | 3.36 [a] | 2.53 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | 3.26 | 1.66 | 1.60 | 5.06 [b] | 2.66 [b] | 2.40 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.685 | 0.650 | 0.396 | 0.024 | 0.016 | 0.703 |
| اثرات متقابل<br>[1] Intractional | | | | | | | |
| مقدار احتمال<br>P-value<br>منبع فسفر × سطح فسفر<br>P source × P level | | 0.800 | 0.948 | 0.682 | 0.425 | 0.702 | 0.623 |

[ab] اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی P<0.05).

[۱] به‌دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

[ab] Value in each column with different letters has statistically significant differences. (Tukey's test $P<0.05$).

[1] Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

**جدول ٦**- تأثیر منبع و سطح فسفر بر کیفیت استخوان درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی

**Table 6**- The effect of the source and level of phosphorus (P) on tibia bone quality in broilers

| منبع فسفر<br>P source | سطح فسفر<br>P level | وزن خشک<br>Dry weight (mg) | طول<br>Length (mm) | شاخص وزن<br>Weight index | قطر دیافیز<br>Diaphysis diameter (mm) | ضخامت دیواره<br>Wall thickness (mm) | قطر کانال مدولاری<br>Medullary canal diameter (mm) | شاخص تیبیوتارسال<br>Tibiotarsal index | شاخص روبوستیسیتی<br>Robusticity index |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فاقد منبع فسفر<br>No P source | 0.11 % | 1606 $^{e}$ | 67.7 $^{d}$ | 23.71 $^{e}$ | 5.93 $^{c}$ | 0.88 $^{c}$ | 5.05 | 14.86 | 5.75 $^{ab}$ |
| مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 0.16 % | 1772 $^{d}$ | 70.3 $^{bc}$ | 25.17 $^{de}$ | 6.00 $^{bc}$ | 0.93 $^{bc}$ | 5.07 | 15.52 | 5.81 $^{a}$ |
| | 0.21 % | 2018 $^{b}$ | 71.3 $^{b}$ | 28.28 $^{b}$ | 6.14 $^{abc}$ | 0.98 $^{ab}$ | 5.16 | 15.98 | 5.64 $^{b}$ |
| | 0.26 % | 2332 $^{a}$ | 73.6 $^{a}$ | 30.31 $^{a}$ | 6.35 $^{a}$ | 1.03 $^{a}$ | 5.32 | 16.24 | 5.63 $^{b}$ |
| خاکستر استخوان<br>Bone ash | 0.16 % | 1706 $^{de}$ | 68.7 $^{bc}$ | 24.80 $^{de}$ | 6.19 $^{a}$ | 0.95 $^{abc}$ | 5.34 | 15.34 | 5.75 $^{ab}$ |
| | 0.21 % | 1840 $^{cd}$ | 70.6 $^{b}$ | 26.05 $^{cd}$ | 6.35 $^{a}$ | 0.95 $^{abc}$ | 5.40 | 14.95 | 5.76 $^{a}$ |
| | 0.26 % | 1960 $^{bc}$ | 71.1 $^{b}$ | 27.53 $^{bc}$ | 6.28 $^{ab}$ | 1.00 $^{ab}$ | 5.28 | 15.92 | 5.68 $^{ab}$ |
| مقدار احتمال<br>P-value | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.0012 | 0.0002 | 0.05 | 0.122 | 0.0007 |
| خطای استاندارد میانگین<br>SEM | | 32.05 | 0.388 | 0.389 | 0.072 | 0.019 | 0.078 | 0.368 | 0.029 |
| | | | | | اثرات اصلی<br>Main effects | | | | |
| درصد فسفر<br>P level | 0.16 % | 1739 $^{c}$ | 69.5 $^{c}$ | 24.98 $^{c}$ | 6.09 $^{b}$ | 0.94 $^{b}$ | 5.15 | 15.43 | 5.78 $^{a}$ |
| | 0.21 % | 1929 $^{b}$ | 70.9 $^{b}$ | 27.16 $^{b}$ | 6.24 $^{ab}$ | 0.96 $^{b}$ | 5.28 | 15.46 | 5.70 $^{b}$ |
| | 0.26 % | 2096 $^{a}$ | 72.4 $^{a}$ | ش28.92 | 6.31 $^{a}$ | 1.01 $^{a}$ | 5.30 | 16.08 | 5.66 $^{b}$ |
| مقدار احتمال<br>P-value | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.017 | 0.002 | 0.137 | 0.163 | 0.0007 |
| منبع فسفر<br>P source | مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 2007 $^{a}$ | 71.7 $^{a}$ | 27.92 $^{a}$ | 6.16 | 0.98 | 5.18 | 15.91 | 5.70 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | 1835 $^{b}$ | 70.1 $^{b}$ | 26.13 $^{b}$ | 6.37 | 0.96 | 5.30 | 15.41 | 5.73 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.074 | 0.402 | 0.057 | 0.107 | 0.141 |
| | | | | | اثرات متقابل<br>Intractional | | | | |
| مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 0.16 % | 1772 $^{d}$ | 70.3 | 25.17 $^{d}$ | 6.00 | 0.93 | 5.07 | 15.52 | 5.81 $^{a}$ |
| | 0.21 % | 2018 $^{b}$ | 71.3 | 28.28 $^{b}$ | 6.14 | 0.98 | 5.16 | 15.98 | 5.64 $^{b}$ |
| | 0.26 % | 2332 $^{a}$ | 73.6 | 30.31 $^{a}$ | 6.35 | 1.03 | 5.32 | 16.24 | 5.63 $^{b}$ |
| خاکستر استخوان<br>Bone ash | 0.16 % | 1706 $^{d}$ | 68.7 | 24.80 $^{d}$ | 6.19 | 0.95 | 5.34 | 15.34 | 5.75 $^{ab}$ |
| | 0.21 % | 1840 $^{cd}$ | 70.6 | 26.05 $^{cd}$ | 6.35 | 0.95 | 5.40 | 14.95 | 5.76 $^{a}$ |
| | 0.26 % | 1960 $^{bc}$ | 71.1 | 27.53 $^{bc}$ | 6.28 | 1.00 | 5.28 | 15.92 | 5.68 $^{ab}$ |
| مقدار احتمال<br>P-value<br>منبع فسفر × سطح فسفر<br>P source × P level | | 0.020 | 0.081 | 0.019 | 0.118 | 0.327 | 0.178 | 0.476 | 0.015 |

[ab] اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی *P<0.05*).

[ab] Value in each column with different letters has statistically significant differences. (Tukey's test *P<0.05*).

**جدول ۷**– تأثیر منبع و سطح فسفر بر استحکام و میزان خاکستر و فسفر استخوان درشت‌نی در جوجه‌های گوشتی

**Table 7**- Effect of source and level of phosphorus on strength and tibia bone ash and phosphorus (P) in broilers

| منبع فسفر<br>P source | سطح فسفر<br>P level | تنش برشی<br>(N/mm²)Shear stress | تنش خمشی<br>(N/mm²)Tensile stress | خاکستر درشت‌نی<br>Tibia ash<br>(% of dry matter) | فسفر درشت‌نی<br>Tibia P<br>(% of dry matter) |
|---|---|---|---|---|---|
| فاقد منبع فسفر<br>No phosphorus source | 0.11 % | 13.03 c | 28.99 b | 39.56 c | 2.59 e |
| مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 0.16 % | 22.79 ab | 49.64 a | 41.77 c | 3.11 d |
| | 0.21 % | 25.00 ab | 52.80 a | 46.89 ab | 3.78 bc |
| | 0.26 % | 27.71 a | 55.44 a | 48.19 a | 4.19 a |
| خاکستر استخوان<br>Bone ash | 0.16 % | 19.76 bc | 40.92 ab | 41.86 c | 2.94 d |
| | 0.21 % | 25.04 ab | 51.48 a | 45.25 b | 3.68 c |
| | 0.26 % | 26.63 ab | 56.08 a | 47.65 ab | 4.04 ab |
| مقدار احتمال<br>P-value | | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| خطای استاندارد میانگین<br>SEM | | 1.61 | 3.397 | 0.651 | 0.072 |
| **اثرات اصلی<br>Main effects** | | | | | |
| درصد فسفر<br>P level | 0.16 % | 21.27 b | 45.28 b | 41.81 c | 3.02 c |
| | 0.21 % | 25.02 ab | 52.14 ab | 46.07 b | 3.73 b |
| | 0.26 % | 27.17 a | 55.75 a | 47.92 a | 4.11 a |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.006 | 0.023 | <0.0001 | <0.0001 |
| منبع فسفر<br>P source | مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 25.16 | 52.63 | 45.62 | 3.69 a |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | 23.81 | 49.49 | 44.92 | 3.55 b |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.328 | 0.296 | 0.171 | 0.027 |
| **اثرات متقابل<br>Intractional [1]** | | | | | |
| مقدار احتمال<br>P-value<br>منبع فسفر × سطح فسفر<br>P source × P level | | 0.663 | 0.404 | 0.364 | 0.861 |

[ab] اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی $P<0.05$).

[1] به‌دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

[ab] Value in each column with different letters has statistically significant differences. (Tukey's test $P<0.05$).

[1] Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

شاخص وزن (نسبت وزن به طول استخوان) یک شاخص ساده برای توصیف چگالی استخوان است (Onyango *et al.*, 2003). بر همین اساس، ما مشاهده کردیم که در جوجه‌های تغذیه شده با سطوح پایین فسفر، این شاخص کمتر بود. همچنین شاخص‌های روبوستیسیتی و تیبیوتارسال نشان‌دهنده درجه معدنی شدن و استحکام استخوان هستند. هر چقدر شاخص روبوستیسیتی کمتر و شاخص تیبیوتارسال بیشتر باشد، نشان می‌دهد که استخوان مستحکم‌تر است و درجه کانی‌سازی در آن بیشتر بوده است (Mutuş *et al.*, 2006). لیم و همکاران (Lim Teik Chung *et al.*, 2019) گزارش کردند که افزودن مونوکلسیم‌فسفات به جیره و افزایش سطح فسفر باعث افزایش شاخص تیبیوتارسال می‌شود. در مطالعه حاضر نیز میزان شاخص تیبیوتارسال در جوجه‌هایی که کمترین سطح فسفر را دریافت کرده بودند، کمتر بود؛ امّا شاخص روبوستیسیتی برای این جوجه‌ها به‌طور معناداری بیشتر شده بود که نشان‌دهنده کاهش درجه معدنی شدن درشت‌نی با کاهش سطح فسفر جیره است. همچنین باتوجه به عدم وجود تفاوت معنادار در شاخص ربوستوسیتی، تیبیوتارسال و تنش خمشی و برشی در استخوان درشت‌نی جوجه‌های تغذیه شده با خاکستر استخوان و مونوکلسیم‌فسفات، می‌توان نتیجه گرفت که خاکستر استخوان توانسته است، همانند مونوکلسیم‌فسفات در استخوان‌سازی و تقویت سیستم اسکلتی پرنده نقش ایفا کند و کمبود

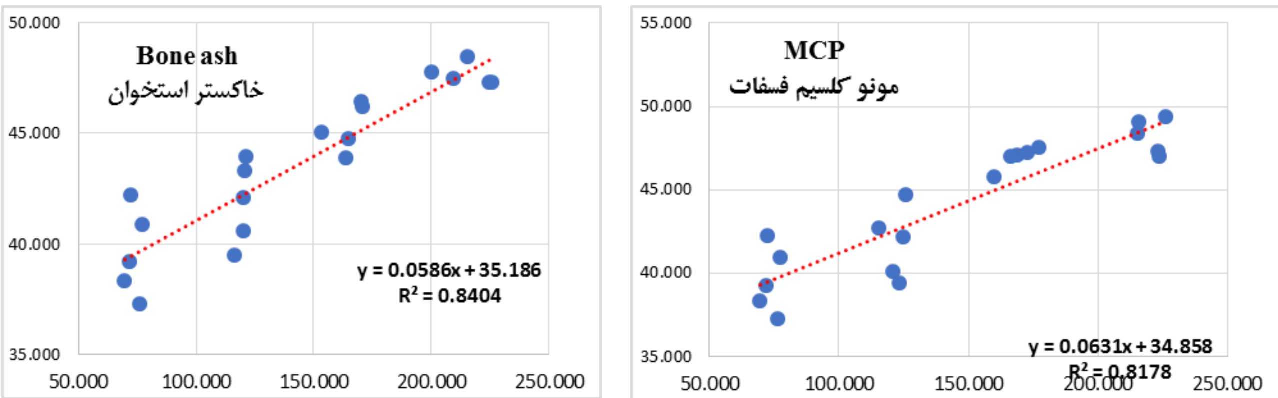
فسفر را به‌خوبی جبران کند.

درصد خاکستر استخوان پرنده بازتابی از سطح عناصر معدنی در جیره به‌خصوص کلسیم و فسفر است و زمانی که کمبود این عناصر در جیره وجود داشته باشد، منجر به تأخیر در سرعت رشد و کانی‌سازی ضعیف می‌شود (Li *et al.*, 2020). والابل و همکاران (Valable *et al.*, 2018) گزارش کردند که کاهش سطح فسفر و کلسیم جیره باعث کاهش معنادار وزن خاکستر استخوان درشتنی و انگشت پا می‌شود. والترز و همکاران (Walters *et al.*, 2019) نیز مشاهده کردند که با افزایش سطح فسفر قابل دسترس در خوراک از طریق منابع معدنی یا افزودن فیتاز به جیره، درصد فسفر و خاکستر درشتنی افزایش می‌یابد. بر همین اساس، ما نیز در این مطالعه مشاهده کردیم که با افزایش سطح فسفر جیره، درصد خاکستر و فسفر درشتنی به‌طور معناداری افزایش می‌یابد. همچنین، از مشابه بودن درصد خاکستر درشتنی در جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم‌فسفات و خاکستر استخوان، می‌توانیم نتیجه بگیریم که هر دو منبع توانسته‌اند به‌خوبی فسفر و کلسیم را جهت استخوان‌سازی در اختیار پرنده قرار بدهند. همچنین با در نظر گرفتن این نکته که درصد قابل توجهی از خاکستر تیب درشتنی یا مربوط به کلسیم است (۳۴ درصد) و از آنجایی که درصد فسفر درشتنی در جوجه‌های تغذیه شده با مونوکلسیم‌فسفات بیشتر بود؛ امّا در درصد خاکستر درشتنی مشابه بود، می‌توان نتیجه گرفت که کلسیم موجود در خاکستر استخوان نیز برای پرنده قابلیت دسترسی خوبی داشته است و خاکستر استخوان می‌تواند مشابه مونوکلسیم‌فسفات منبع خوبی برای تأمین کلسیم نیز باشد.

**جدول ۸**- تخمین زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان براساس درصد خاکستر و فسفر درشتنی نسبت به فسفر مصرفی

**Table 8**- Estimation of phosphorus (P) bioavailability in bone ash based on the percentage of tibia ash and phosphorus compared to consumed phosphorus

| | منبع فسفر<br>P source | معادله رگرسیون<br>Regression equation | ضریب تبین<br>R-square | ارزش زیست‌فراهمی نسبی (درصد)<br>Bioavailability (%) |
|---|---|---|---|---|
| خاکستر درشتنی<br>Tibia ash | مونوکلسیم‌فسفات<br>MCP | Y=0.0631 X+ 34.58 | 0.81 | 100 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | Y=0.0586X+ 35.18 | 0.84 | 92.86 |
| فسفر درشتنی<br>Tibia P | مونوکلسیم‌فسفات<br>MCP | Y=0.0111 X+ 1.794 | 0.92 | 100 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | Y=0.0107 X+ 1.786 | 0.92 | 96.39 |

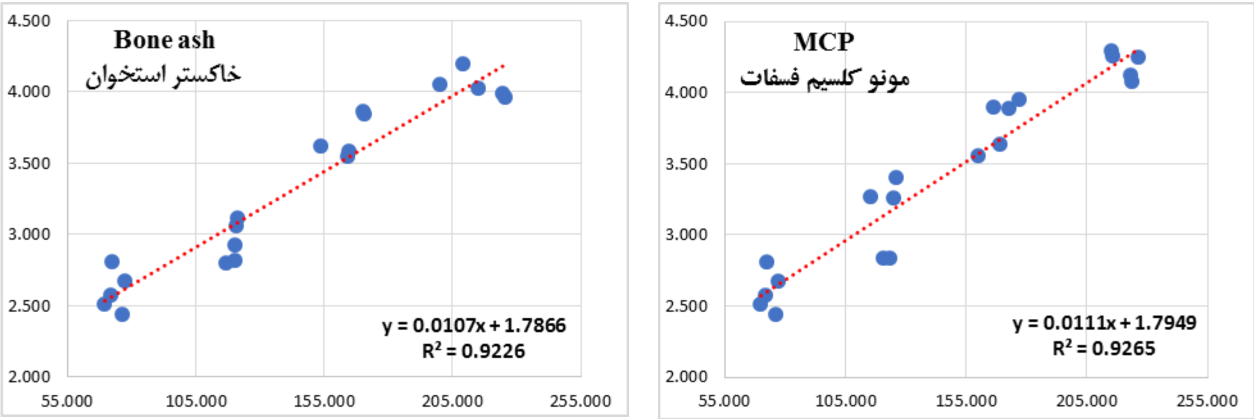



**شکل ۲**- نمودار رگرسیون درصد خاکستر استخوان درشتنی نسبت به فسفر مصرفی

**Figure 2**- Regression diagram of percentage of tibia bone ash relative to consumed phosphorus

محور عمودی نشان‌دهنده درصد خاکستر درشتنی (٪ از ماده خشک) و محور افقی نشان‌دهنده فسفر مصرفی در روز (میلی گرم) است.

The vertical axis shows the percentage of tibia ash (% of dry matter) and the horizontal axis shows the phosphorus consumed per day (mg).




**شکل ۳**– نمودار رگرسیون درصد فسفر استخوان درشتنی نسبت به فسفر مصرفی

**Figure 3**- Regression diagram of phosphorus percentage of tibia bone in relation to consumed phosphorus

محور عمودی نشان‌دهنده درصد فسفر درشتنی (٪ از ماده خشک) و محور افقی نشان‌دهنده فسفر مصرفی در روز (میلی گرم) است.

The vertical axis shows the percentage of tibia phosphorus (% of dry matter) and the horizontal axis shows the phosphorus consumed per day (mg).

**۴. قابلیت هضم**

نتایج حاصل از آزمایش قابلیت هضم در جدول ۹ گزارش شده است. با توجه به اثرات اصلی با افزایش سطح فسفر خوراک و استفاده از مونوکلسیم‌فسفات درصد قابلیت هضم کل خوراک به‌طور معناداری افزایش یافته است ($P<0.05$). همچنین درصد قابلیت هضم فسفر نیز با افزایش فسفر خوراک و استفاده از خاکستر استخوان، به‌صورت عددی افزایش یافته است؛ امّا تأثیر معناداری نداشته است.

مطابق با نتایج ما، امامی و همکاران (Emami *et al.*, 2013) گزارش کردند که کاهش فسفر جیره باعث کاهش درصد قابلیت هضم ماده خشک و فسفر خوراک می‌شود. والترز و همکاران (Walters *et al.*, 2019) نیز گزارش کردند که افزایش سطح فسفر قابل دسترس جیره از طریق منابع معدنی یا فیتاز باعث افزایش قابلیت هضم فسفر خوراک می‌شود. در این مطالعه نیز ما مشاهده کردیم که افزایش فسفر خوراک، قابلیت هضم ماده خشک خوراک را به‌طور معناداری زیاد می‌کند؛ امّا بر قابلیت هضم فسفر تأثیر معناداری ندارد. این امر احتمالاً به این دلیل بوده است که در زمان کمبود فسفر در جیره، پرنده جذب فسفر را در روده افزایش می‌دهد تا بتواند بهره‌وری از خوراک را بیشتر کند و با این کمبود مواد مغذی سازگار شود (Rousseau *et al.*, 2016)؛ بنابراین، احتمالاً به‌دلیل وجود کمبود فسفر، قابلیت هضم فسفر تحت تأثیر معناداری قرار نگرفته است؛ هرچند که به‌صورت عددی کاهش یافته است.

قابلیت هضم ایلئومی فسفر خاکستر استخوان در این مطالعه ۸۵/۵۷ درصد برآورد شد، درصورتی که در مطالعه ون‌هارن و همکاران (Van Harn *et al.*, 2017) قابلیت هضم فسفر خاکستر استخوان ۷۸/۲ درصد و در مطالعه سیمونس و همکاران (Simons *et al.*, 1991) ۷۹/۳ درصد گزارش شده است. این تفاوت شاید به‌دلیل شرایط متفاوت در فرآیند تولید خاکستر استخوان بوده است؛ چرا که در مطالعه آن‌ها از خاکستر استخوان ژلاتین‌زدایی نشده استفاده شده بود و همین امر باعث کاهش قابلیت هضم فسفر می‌شود (Barshan *et al.*, 2019).

## نتیجه‌گیری

باتوجه به محدودیت استفاده از منابع معدنی فسفر و کلسیم و همچنین گران شدن این منابع، ما نیاز داریم تا جایگزین‌های مناسبی برای منابع معدنی فسفر و کلسیم انتخاب کنیم. استخوان یک منبع غنی از فسفر و کلسیم است که می‌توان از آن به‌عنوان یک منبع آلی برای تأمین فسفر و کلسیم در جیره‌های طیور صنعتی استفاده کرد. با توجه به مطالعات گذشته، برآورد درصد قابلیت زیست‌فراهمی براساس درصد خاکستر یا فسفر استخوان یک روش استاندارد و دقیق برای محاسبه قابلیت زیست‌فراهمی فسفر یک ماده خوراکی نسبت به یک ماده خوراکی استاندارد مثل مونوکلسیم‌فسفات است. به همین دلیل، با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش، می‌توان نتیجه گرفت که به‌طور کلی، قابلیت زیست‌فراهمی فسفر خاکستر استخوان نسبت به مونوکلسیم فسفات ۹۲ تا ۹۶ درصد است. این نتیجه بیانگر قابلیت خوب خاکستر استخوان در جایگزینی منابع معدنی فسفر است.

## تشکر و قدردانی

از شرکت خاکستر استخوان الماس نوین که حمایت مالی این

پژوهش را به عهده داشتند، تشکر و قدردانی می‌کنیم.

**جدول ۹**- تأثیر منبع و سطح فسفر بر قابلیت هضم در جوجه‌های گوشتی (درصد)

**Table 9**- Effect of source and level of phosphorus (P) on digestibility in broilers (%)

| منبع فسفر<br>P source | سطح فسفر<br>P level | قابلیت هضم ماده خشک<br>Dry matter digestibility | قابلیت هضم فسفر<br>P digestibility |
|---|---|---|---|
| فاقد منبع فسفر<br>No phosphorus source | 0.11 % | 56.54 $^{b}$ | 81.83 |
| مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 0.16 % | 65.64 $^{a}$ | 83.22 |
| | 0.21 % | 67.42 $^{a}$ | 85.46 |
| | 0.26 % | 69.92 $^{a}$ | 86.03 |
| خاکستر استخوان<br>Bone ash | 0.16 % | 62.83 $^{ab}$ | 84.70 |
| | 0.21 % | 65.57 $^{a}$ | 85.71 |
| | 0.26 % | 66.01 $^{a}$ | 86.30 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.0026 | 0.483 |
| خطای استاندارد میانگین<br>SEM | | 2.00 | 1.704 |
| | اثرات اصلی<br>Main effects | | |
| درصد فسفر<br>P level | 0.16 % | 64.23 $^{b}$ | 83.96 |
| | 0.21 % | 66.49 $^{ab}$ | 85.58 |
| | 0.26 % | 67.97 $^{a}$ | 86.17 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.049 | 0.391 |
| منبع فسفر<br>P source | مونوکلسیم فسفات<br>MCP | 67.66 $^{a}$ | 84.90 |
| | خاکستر استخوان<br>Bone ash | 64.80 $^{b}$ | 85.57 |
| مقدار احتمال<br>P-value | | 0.023 | 0.621 |
| | اثرات متقابل<br>[1] Intractional | | |
| مقدار احتمال<br>P-value<br>منبع فسفر × سطح فسفر<br>P source × P level | | 0.774 | 0.912 |

[ab] اعداد در هر ستون با حروف متفاوت، دارای تفاوت معنادار از لحاظ آماری هستند (تست توکی P<0.05).

[۱] به‌دلیل معنادار نبودن اثرات متقابل، مقایسات میانگین اثرات متقابل گزارش نشد.

[ab] Value in each column with different letters has statistically significant differences. (Tukey's test P<0.05).

[1] Due to non-significance of interaction effects, mean comparisons of interaction effects were not reported.

## Refrences

1. Akhlaghi, A., Zamiri, M. J., Jafari Ahangari, Y., Atashi, H., Ansari Pirsaraei, Z., Deldar, H., Eghbalian, A. N., Akhlaghi, A. A., Navidshad, B., & Yussefi Kelarikolaei, K. (2013). Oral exposure of broiler breeder hens to extra thyroxine modulates early adaptive immune responses in progeny chicks. *Poultry Science*, *92*, 1040-49 . https://doi.org/10.3382/ps.2012-02545 .
2. Akter, M., Graham, H., & Iji, P. A. (2016). Response of broiler chickens to different levels of calcium, non-phytate phosphorus and phytase. *British Poultry Science*, *57*, 799-809 . https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1216943.

3. Barnett, Ellis, & Nordin, B. E. C. (1960). The radiological diagnosis of osteoporosis: A new approach. *Clinical Radiology*, *11*, 166-7 .https://doi.org/10.1016/S0009-9260(60)80012-8
4. Barshan, S., Saeedi, K., Hedayati, M., & Yari, M. (2019). Influence of bone meal degelatinisation and calcium source and particle size on broiler performance, bone characteristics and digestive and plasma alkaline phosphatase activity. *British Poultry Science*, *60*, 297-308 .https://doi.org/10.1080/00071668.2019.1587151.
5. Cowieson, A. J., Acamovic, T., & Bedford, M. R. (2004). The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British Poultry Science*, *45*, 101-08 . https://doi.org/10.1080/00071660410001668923.
6. Cowieson, A. J., Acamovic, T., & Bedford. M. R. (2006) Supplementation of corn–soy-based diets with an *Eschericia coli*-derived phytase: Effects on broiler chick performance and the digestibility of amino acids and metabolizability of minerals and energy. *Poultry Science*, *85*, 1389-97 .https://doi.org/10.1093/ps/85.8.1389.
7. Cuevas, A. C., González, E. A., Coello, C. L., & Menocal, J. A. (2019). Phosphorus bioavailability, amino acid digestibility and metabolizable energy of broiler chick diets supplemented with low-oil distiller’s dried grains with solubles. *Veterinaria México*, *6*, 40-51.
8. Dilger, R. N., Onyango, E. M., Sands, J. S., & Adeola, O. (2004). Evaluation of microbial phytase in broiler diets. *Poultry Science*, 83, 962-70 .https://doi.org/10.1093/ps/83.6.962.
9. Efranji, S., Sedghi, M., Mahdavi, A. H., & Abdollahi, M. R. (2022). Effects of feed physical form and insoluble fiber during different rearing periods on productive performance, immune response, behavior, tibia indices and gastrointestinal alterations of W-36 laying pullets. *Poultry Science Journal*, *10*, 111-27.
10. Emami, N., Khodambashi, S., Naeini, Z., & Ruiz-Feria, C. A. (2013). Growth performance, digestibility, immune response and intestinal morphology of male broilers fed phosphorus deficient diets supplemented with microbial phytase and organic acids. *Livestock Science*, *157*, 506-13 .https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.08.014
11. Fenton, T. W., & Fenton, M. (1979). An improved procedure for the determination of chromic oxide in feed and feces. *Canadian Journal of Animal Science*, *59*, 631-34 .https://doi.org/10.4141/cjas79-081
12. Haug, Wolfgang, & Hans-Joachim Lantzsch. (1983). Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *34*: 1423-26 . https://doi.org/10.1002/jsfa.2740341217
13. Imari, Zeyad k., Hassanabadi, A. & Nassiri Moghaddam, H. (2020). Response of broiler chickens to calcium and phosphorus restriction: Effects on growth performance, carcase traits, tibia characteristics and total tract retention of nutrients. *Italian Journal of Animal Science*, *19* :929 .–https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1808101
14. Kocabagli, NEŞE. (2001). The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, *25*: 797-802.
15. Li, T., Guanzhong X., Yuxin S., Liyang Z., Sufen Li, Lin Lu, Zongping L., Xiudong L., & Xugang L. (2020). Dietary calcium or phosphorus deficiency impairs the bone development by regulating related calcium or phosphorus metabolic utilization parameters of broilers. *Poultry Science*, *99*: 3207-14 . https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.01.028.
16. Li, X, Zhang, D. & Bryden, W. L. (2017). Calcium and phosphorus metabolism and nutrition of poultry: are current diets formulated in excess? *Animal Production Science*, *57*: 2304-10.
17. Li, Xiuhua, Zhang, D. Tsung, Y. & Wayne, L. (2016). Phosphorus bioavailability: a key aspect for conserving this critical animal feed resource with reference to broiler nutrition. *Agriculture*, *6*: 25 . https://doi.org/10.3390/agriculture6020025.
18. Lim T. C., Eric, Mamat H. Kamalludin, Faez F. Abdullah J., Mohd Farhan, H. R., Teck C., & Zulkifli, I. (2019). Effect of Monocalcium Phosphate Supplementation on the Growth Performance, Carcass Characteristic, Gut Histomorphology, Meat and Bone Quality of Broiler Chickens. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, *42*.
19. Liu, J.B., Chen, D. W. & Adeola, O. (2013). Phosphorus digestibility response of broiler chickens to dietary calcium-to-phosphorus ratios. *Poultry Science*, *92*: 1572-78 .https://doi.org/10.3382/ps.2012-02758.
20. Matin, N, Utterback, P. L. & Parsons, C. M. (2021). Phosphorus digestibility and relative phosphorus bioavailability in two dried black soldier fly larvae meals and a defatted black soldier fly larvae meal in broiler chickens. *Poultry Science*, *100*: 101221 .https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101221.
21. Mutuş, R., Neşe Kocabağli, Müjdat Alp, NÜKET Acar, MUSTAFA Eren, & ŞŞ Gezen. (2006). The effect of

dietary probiotic supplementation on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Poultry Science*, *85*, 1621-25 .https://doi.org/10.1093/ps/85.9.1621.

22. Nari, N., Ghasemi, H. A., Hajkhodadadi, I., & Khaltabadi Farahani, A. H. (2020). Intestinal microbial ecology, immune response, stress indicators, and gut morphology of male broiler chickens fed low-phosphorus diets supplemented with phytase, butyric acid, or Saccharomyces boulardii. *Livestock Science*, *234*, 103975 . https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103975.
23. Onyango, E. M., Hester, P. Y., Stroshine, R., & Adeola, O. (2003). Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*, *82*, 1787-91 .https://doi.org/10.1093/ps/82.11.1787
24. Pieniazek, J., Smith, K. A., Williams, M. P., Manangi, M. K., Vazquez-Anon, M., Solbak, A., Miller, M., & Lee, J. T. (2017). Evaluation of increasing levels of a microbial phytase in phosphorus deficient broiler diets via live broiler performance, tibia bone ash, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility. *Poultry Science*, *96*, 370-82 .https://doi.org/10.3382/ps/pew225
25. Riesenfeld, A. (1972). Metatarsal robusticity in bipedal rats. *American Journal of Physical Anthropology*, *36*, 229-33 .https://doi.org/10.1002/ajpa.1330360211
26. Rousseau, X., Anne-Sophie, V., Marie-Pierre, L. M., Nathalie, M., Estelle, G., Michel, M., Yves, N., Michel, J. D., & Agnès, N. (2016). Adaptive response of broilers to dietary phosphorus and calcium restrictions. *Poultry Science*, *95*, 2849-60 .https://doi.org/10.3382/ps/pew172
27. Sedghi, M., Sarrami, Z., Ghasemi, R., & Abbasi, M. (2023). Replacing dicalcium phosphate with bone ash in broiler diets and its effect on performance. Second International *Congress of Animal Sciences of Iran, University of Tehran, Tehran, Iran* .https://iransascongress.com (In Persian).
28. Simons, P. C. M., Versteegh, H. A. J., &Van der Klis, J. D. (1991). De beschikbaarheid van fosfor voor slachtkuikens in voederfosfaten en in dierlijke veevoedergrondstoffen. *Verslag*, *93*.
29. Suttle, Neville, F. (2010). The mineral nutrition of livestock-4-th ed. *Wallingford, Oxfordshire: CABI Publishing*.
30. Valable, A. S., Agnès N., Jacques Duclos, M., Pomar, C., Page, G., Nasir, C., Magnin, M., & Létourneau-Montminy, M. P. (2018). Effects of dietary calcium and phosphorus deficiency and subsequent recovery on broiler chicken growth performance and bone characteristics. *Animal*, *12*, 1555-63 . https://doi.org/10.1017/S1751731117003093
31. Van Harn, J., Spek, J. W., Van Vuure, C. A., & Van Krimpen, M. M. (2017).'Determination of pre-cecal phosphorus digestibility of inorganic phosphates and bone meal products in broilers. *Poultry Science*, *96*, 1334-40 . https://doi.org/10.3382/ps/pew458
32. Walters, H. G., Coelho, M., Coufal, C. D., & Lee, J. T. (2019). Effects of increasing phytase inclusion levels on broiler performance, nutrient digestibility, and bone mineralization in low-phosphorus diets. *Journal of Applied Poultry Research*, *28*, 1210-25 .https://doi.org/10.3382/japr/pfz087